

INSETICIDA ORGANOFOSFORADO METAMIDOFÓS: ASPECTOS TOXICOLÓGICOS E ANALÍTICOS

FRANCISCO JOSÉ DA CONCEIÇÃO LIMA *
PAULO ROBERTO BRASIL DE OLIVEIRA MARQUES *
GILVANDA SILVA NUNES * *
SÔNIA MARIA CARVALHO NEIVA TANAKA * *

Este artigo apresenta revisão bibliográfica sobre o inseticida Metamidofós, incluindo suas características físico-químicas, riscos e casos de contaminação/intoxicação. Aborda os aspectos toxicológicos e analíticos do princípio ativo, apresentando as principais técnicas empregadas na determinação deste pesticida organofosforado em diferentes matrizes. Potencialmente tóxico, o Metamidofós vem sendo empregado na agricultura mundial por ser eficaz no combate a diversas pragas. Conclui-se que a validação de métodos rápidos e seletivos é a grande preocupação na análise de Metamidofós e de pesticidas em geral.

PALAVRAS-CHAVE: PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS; METAMIDOFÓS; CONTAMINAÇÃO.

1 INTRODUÇÃO

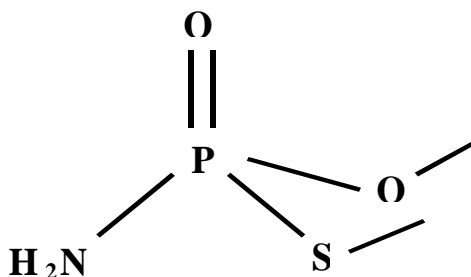
O Metamidofós (*O,S*-dimetilfosforamidotoato; $C_2H_8NO_2PS$) (Figura 1), também conhecido comercialmente como *Monitor*, *Tam*, *Nitofol*, *Swipe*, *Nuratron*, *Vetaron*, *Filitox*, *Patrole*, *Tamanox*, *SRA 5172* ou *Tamaron*, é um pesticida organofosforado (inseticida e acaricida) de largo espectro de ação, obtido como subproduto do Acefato. Trata-se de sólido cristalino de odor acre, com peso molecular de 141,12, pressão de vapor em torno de 3×10^{-4} mmHg a 30 °C, coeficiente de partição de -1,74 e ponto de fusão igual a 46,1 °C. É bastante ativo e sistemático, apresentando bom efeito residual (10 a 12 dias) e boa fitocompatibilidade. Está incluído na classe toxicológica I, é estável entre pH 3 e 8 e apresenta as seguintes

* Mestrandos em Química Analítica, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, MA. (e-mail: paulbrasil@hotmail.com).

** Professoras, Departamento de Tecnologia Química, UFMA, São Luís, MA. (e-mail: vandasn@terra.com.br).

solubilidades (em g/L a 20 °C): a) em água, > 200; b) em isopropanol, > 200; c) em diclorometano, < 200; d) em hexano, em torno de 0,1-1, e e) em tolueno, 2-5 (1). A sua ação ocorre por contato e ingestão, com direto efeito estomacal. Este pesticida é aplicado efetivamente no controle de insetos e pestes, tais como besouros, pulgas, minhocas, carrapatos, ácaros, lagartas, moscas e percevejos, bem como na proteção de diversas culturas, como algodão, batata, feijão, tomate, tabaco, pimentão, milho, brócolis, couve-flor, repolho, morango, pêssego e soja (2-5).

FIGURA 1 - ESTRUTURA DO METAMIDOFÓS



A concentração do ingrediente ativo varia conforme o fabricante, sendo comercializado em formulações não-aquosas concentradas, concentrados emulsificantes, granulados e *sprays*. Apresenta boa compatibilidade com outros pesticidas, porém não pode ser usado com materiais fortemente alcalinos (3,6). O Metamidofós é tóxico para vários organismos podendo afetar diretamente o Sistema Nervoso, pois provoca a inibição das enzimas colinesterases. Em vertebrados, interfere no mecanismo de ação de tais enzimas e no transporte do impulso nervoso pela acetilcolina. Tal fato causa acúmulo de acetilcolina, o que acarreta distúrbios dos centros nervosos, sendo que exposições muito intensas provocam sucessivas sinapses, seguidas de paralisação respiratória e morte (1,7,8).

Na agricultura brasileira, a partir do início da década de 90, verificou-se crescente aumento no uso do Metamidofós. Amplamente empregado em todo o país para proteção de diferentes culturas, já foram registrados casos de uso abusivo e indiscriminado em Minas Gerais (9) e casos de contaminação em culturas de hortaliças em São Luís (MA) (10).

Foram discutidas na presente revisão de literatura as principais

técnicas analíticas empregadas na determinação do inseticida Metamidofós, sendo apresentadas as características físico-químicas e aspectos toxicológicos do produto.

2 TOXICIDADE DO METAMIDOFÓS

Devido à larga utilização e moderada toxicidade para alguns organismos, o Metamidofós pode apresentar sérios riscos à saúde dos homens e dos animais sobretudo quando presente em quantidades acima da tolerada por estes organismos, seja na água, no ar, no solo ou nos alimentos. No caso de envenenamento por inalação, os sintomas iniciais mais comuns são caracterizados por dores no tórax, dificuldade de respiração e dores de cabeça, aliadas à visão borrada e lacrimejante. Quando ingerido provoca náuseas, vômitos, diarreias e câibras (efeitos iniciais mais comuns de envenenamento). Contrações e suor na pele são sintomas observados em caso de contato do produto com partes do corpo. O pesticida é eliminado do organismo de mamíferos predominantemente pela urina (2,3). A Antropina é o antídoto para envenenamento por organofosforados (3). O Metamidofós é altamente tóxico por via oral, cutânea ou até mesmo por exposição a rotas de inalação. Sua dose letal (LD₅₀) oral é de 21 mg/Kg em ratos machos; 16 mg/Kg em fêmeas, e 10-30 mg/Kg em coelhos, gatos e cachorros. Valores para LD₅₀ de inalação incluem 9 mg/Kg em ratos e 19 mg/Kg em camundongos. É considerado muito tóxico para abelhas (11) e pássaros, com valores de LD₅₀ oral entre 8-11 mg/Kg em codornas (12). A concentração letal do Metamidofós (LC₅₀) é de 25-51 mg/L em trutas, 46 mg/L em peixes do tipo *guppies* e 100 mg/L para carpas. Crustáceos são extremamente sensíveis ao Metamidofós e concentrações em torno de $2,2 \times 10^{-7}$ mg/L são letais às larvas destes animais (13).

Casos de envenenamento têm sido observados e relatados na literatura. Em 1992, 47 incidentes de envenenamento por Metamidofós afetaram 329 pessoas em Hong Kong (14), no período compreendido entre junho e julho de 1987. Na Nicarágua foram relatados 548 casos (15), além de intoxicações agudas causadas por vegetais contaminados por Metamidofós (16-18). Teores significativos foram encontrados também em amostras de vegetais em províncias da China (19). Apesar da sua baixa toxicidade oral aguda, este pesticida apresenta efeitos mutagênicos e teratogênicos. Testes têm indicado fraco efeito genotóxico, com capacidade de indução de alterações em cromossomos e algumas mudanças em fígados de fetos têm sido relatadas quando coelhas grávidas foram expostas ao Metamidofós (20). No caso de efeitos carcinogênicos,

ainda não foi apresentada nenhuma evidência em testes com ratos e camundongos. Efeitos na reprodução foram estudados em duas gerações de ratos, sendo observado decréscimo na porcentagem de fêmeas obtidas nas proles (0,15; 0,5 e 1,65 mg/Kg/dia). Estudos de casos de intoxicações agudas, complicações renais, bem como efeitos de alterações em esperma humano são relatados para este inseticida (21-23).

Convém mencionar que, desde a introdução deste inseticida no Brasil, em meados da década de 80, seu uso tem sido cada vez mais freqüente nas lavouras de hortaliças. Desta forma, é de grande importância o conhecimento do nível de resíduos deste pesticida, tanto nas matrizes ambientais, como principalmente nos alimentos básicos empregados na dieta brasileira.

3 DEGRADAÇÃO DO PRINCÍPIO ATIVO

Muitos praguicidas sofrem alterações na estrutura química durante o período que permanecem nos vegetais em que foram aplicados, ou mesmo na água para a qual foram carregados ou no solo em que foram absorvidos. Estes metabólitos ou produtos de degradação são ingeridos junto com os alimentos ou com a água. Alguns destes podem, por vezes, ser mais tóxicos do que o composto original como, por exemplo, o Paration que passa a Paraoxon. Esta transformação ocorre em nível de tecidos vegetais e também nos animais. Alterações semelhantes ocorrem com outros praguicidas organofosforados orgânicos que têm suas ligações tiofosfato ($P=S$) oxidadas a ortofosfato ($P=O$), sendo que sob esta última forma são inibidores diretos das colinesterases. Assim, para melhor compreensão dos efeitos do Metamidofós sobre os sistemas biológicos é necessário o conhecimento das relações entre o pesticida e seus metabólitos ou derivados e os complexos enzimáticos dos seres vivos (2,3).

Em solos aeróbios, o tempo de meia-vida do Metamidofós é de 1,9 dias em siltes e 6,1 em areia. Em ambientes aquáticos, o tempo de meia-vida do Metamidofós varia basicamente conforme o pH do meio. Em pH 5,0, este tempo é de 309 dias; em pH neutro, de 27 dias, e em pH levemente alcalino (pH~9,0) de 3 dias. A luz solar apresenta influência significativa na degradação deste composto, visto que mesmo em pH ácido, na presença da luz do sol, seu tempo de meia-vida diminui para 90 dias. Conforme YEN et al. (23) a degradação do princípio ativo é variável e o tempo de meia-vida oscila entre 1,11 a 1,61 dias em água superficial, em temperatura entre 20-30 °C e umidade em torno de 50 a 100%. Já MALATO et al. (24) verificaram que, sob efeito da luz solar e em presença

de partículas dispersas de óxido de titânio, o Metamidofós (Tamaron 50% em relação ao princípio ativo) teve sua velocidade de degradação aumentada em 18 vezes. DOOG & CHANG (25) estudaram a degradação de pesticidas organofosforados, entre os quais o Metamidofós, pela ação de luz ultravioleta (UV) em combinação com peróxido de hidrogênio. Verificaram a influência de combinações férreas, incluindo o ferro com valência zero, no aumento da eficiência de degradação do organofosforado. A degradação quase completa foi observada quando o sistema com combinações de ferro foi irradiado com luz UV, de tal forma que a eficiência da degradação no sistema UV/Fe/H₂O₂ foi mais efetiva que no sistema UV/H₂O₂. Em outro estudo de estabilidade de compostos organofosforados, KOUKUREK *et al.* (26) verificaram que durante a extração do composto em diferentes matrizes vegetais (trigo, laranja, repolho branco), utilizando o mesmo solvente (acetato de etila e sulfato de sódio), ocorreu degradação significativa do pesticida na temperatura de 40 °C, sobretudo nas amostras de laranja e repolho. Nas amostras de trigo, a estabilidade mostrou-se pouco maior que nos demais extratos, sendo também observada leve degradação do Metamidofós e de outros organofosforados em solução de acetato de etila após 60 dias a 40 °C. Em trabalhos realizados com culturas de tomates, o tempo de meia-vida no legume e nas folhas foram de 4,8-5,1 e 5,5-5,9 dias, respectivamente (27).

BOMBOSCH & DEDEK (28), estudando a degradação química por radiações, observaram que no IPIDEX (mistura em forma de pasta que contém Metamidofós) a degradação do princípio ativo ocorreu em 2 horas, aproximadamente. Tal estudo foi conduzido com besouros, tendo sido avaliada a absorção da seiva com a pasta aplicada. DEDEK *et al.* (29) estudaram o Metamidofós em diferentes matrizes, com métodos aplicados também a pesticidas conjugados. Verificaram que as respostas variavam de acordo com a matriz investigada, o pH do meio e o solvente empregado na extração.

Vários estudos têm sido realizados para verificar e quantificar os efeitos, bem como o mecanismo de ação e as rotas de degradação do Metamidofós no meio ambiente, na água, no solo e nos alimentos, principalmente vegetais, nos quais o agrotóxico é aplicado no período de cultivo (30, 31). Pesquisa realizada por YEN *et al.* (23), com amostras de água de superfície para estabelecer comparação entre o Metamidofós e o Acefato, evidenciou que o Metamidofós é menos perigoso no que tange à contaminação de águas superficiais. Isto se deve à sua rápida degradação e também porque o Acefato apresenta tempo de meia-vida maior (entre 7,50 e 13,20 dias), bem como maior mobilidade no solo, o que facilita a contaminação de lençóis subterrâneos.

4 MÉTODOS PARA ESTUDO E ANÁLISE DO METAMIDOFÓS

Técnicas analíticas têm sido propostas, estudadas e empregadas para análise e quantificação de pesticidas organofosforados de forma geral. Os métodos mais utilizados são baseados em técnicas de cromatografia em fase gasosa (CG) ou líquida (CL). Estas técnicas são precisas e reprodutivas, apresentando baixos limites de detecção, porém, necessitam de pré-tratamento da amostra, como extração e purificação, o que acarreta várias etapas de bancada e elevado tempo de análise. Decorrente deste fato, outras técnicas vêm sendo discutidas e pesquisadas ao longo das últimas décadas. Entre estas, destacam-se aquelas baseadas em imunoensaios, além de testes colorimétricos e espectrométricos, técnicas eletroanalíticas, detecções bioanalíticas baseadas em inibições enzimáticas, além de técnicas modificadas por injeções em fluxo. Em geral, o desenvolvimento das metodologias, ao longo dos anos, visa avaliar resíduos de Metamidofós em distintas matrizes e reduzir o número de etapas de preparo da amostra (32-36).

4.1 CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA

A cromatografia em fase gasosa (CG) tem sido o método mais utilizado na análise de resíduos de Metamidofós variando-se o tipo de detector ou sistemas de injeção. Esta técnica tem proporcionado resultados satisfatórios em análises deste pesticida em diferentes matrizes (37).

DRESCHER e FIEDLER (38) efetuaram determinações de Metamidofós em néctar de alta e baixa viscosidade, injetando os extratos (em alíquotas de 2 µL) em cromatógrafo a gás. Para tanto, utilizaram coluna de 1 m x 2 m, contendo 1% de Reoplex 400, a 175 °C, nitrogênio como gás de arraste (20 min - 1 mL) e detector seletivo de nitrogênio-fósforo (NPD). O índice de recuperação obtido foi em torno de 82%, com amostras fortificadas ao nível de 0,8 ppm. OBANA et al. (39) determinaram, ao mesmo tempo, Acefato e Metamidofós, usando cromatografia a gás com detector fotométrico de chama (FPD). A recuperação para sete vegetais fortificados a 0,1 ppm foram superiores a 80%. Os mesmos autores usaram CG para quantificar vários pesticidas organofosforados em alimentos. Ingredientes ativos como Metamidofós, Acefato e Dimetoato foram eluídos em coluna de 0,25 µm DB – 210 (5 m X 0,25 d.i.) com detector fotométrico e temperatura do forno de 300 °C. Os pesticidas Metamidofós e Acefato apresentaram recuperações variando entre 37 e

60% com coeficientes de variação entre 6,1 e 41,5% ($n = 3$) (39, 40). LEE *et al.* (41) efetuaram a análise do Metamidofós por GC em sobras de alimentos. Depois de preparados, os extratos foram injetados no modo *splitless* e os componentes eluídos numa coluna DB-17 (30 m X 0,53 mm, espessura do filme de 1 μm). A temperatura do forno foi de 245 °C (tempo de eluição: 5 min, a 7 °C/min, com gás de arraste N_2 , num fluxo de 10 mL/min). O detector empregado foi o fotométrico de chama, no modo P. Foram obtidos limites de detecção para Metamidofós de 0,03 mg/Kg, com recuperação de 74-113% e RSD 1,3-6,1. WYLIE e UCHYAMA (42) efetuaram a determinação de seis organofosforados usando cromatografia em fase gasosa, dois detectores, um NPD e outro por espectrometria de massas (MS), com injeção do tipo *splitless* pulsada. Para o Metamidofós, a recuperação esteve entre 97 e 102%. OGAWA *et al.* (43) utilizaram a mesma metodologia e obtiveram recuperações variando entre 80 a 90%, em 12 tipos de amostras, num total de 447 analisadas.

Utilizando método simplificado na preparação dos extratos de pesticidas organofosforados, HIRAI *et al.* (44) determinaram Metamidofós por CG, tendo obtido limites de detecção na faixa de 0,01-01 ppm. Entretanto, os valores de recuperação foram extremamente baixos (em torno de 15,8%) para amostras de repolho, pepino, tomate, espinafre e suco de uva. Da mesma forma, LI & WANG *et al.* (45) quantificaram o pesticida em vegetais por CG, com detector fotométrico de chama, sendo que os extratos obtidos após o tratamento das amostras foram analisados diretamente em coluna capilar de quartzo (30 m x 0,53 mm d.i.), coberta com DB-17 (1 μm). Resultados adequados de precisão e exatidão foram obtidos, com valores de RSD da ordem de 0,06%, e limites de detecção de 0,06 mg/Kg.

O Metamidofós também esteve na lista dos pesticidas determinados por CG em alimentos (doces industrializados) por GARCIA *et al.* (46), em que os limites de detecção foram verificados na faixa de ng/g. Método semelhante foi aplicado posteriormente para análise de matrizes vegetais (47), cujas recuperações variaram de 80-115%. AGUERA *et al.* (48) empregaram CG com detector por espectrometria de massas (CG-MS) para confirmação de dados obtidos nas determinações de pesticidas organofosforados, após injeção de extratos de frutos e de vegetais em sistema cromatográfico com detector fotométrico de chama. O sistema CG-MS utiliza a técnica de fragmentação por impacto de elétrons (detecção EIMC, com potência aplicada de 70 eV). A linearidade para 25 pesticidas organofosforados esteve na faixa de 0,15-50 ng, com limites de detecção de 5 a 20 $\mu\text{g/Kg}$, recuperações entre 68 e 108%, e valores de RSD na ordem de 30%. O Metamidofós e o Acefato, por exemplo, apresentaram valores de RSD de 33,9% e 30,83%, respectivamente. Os limites de

detecção para estes dois compostos foram de ~3 ng/L, com recuperações entre 88,8 a 99,0% e coeficiente de variação global de 1,1 a 6,5%. Neste caso, os extratos de sementes e cascas de coníferas, obtidos por pré-tratamento em colunas contendo carvão e celulose, foram injetados em cromatógrafo a gás (49).

MATTERN *et al.* (50) determinaram vários pesticidas, entre os quais o Metamidofós, em amostras de frutos e vegetais. A metodologia empregada (método multirresíduo) apresentou nova variação que consistiu na pré-concentração como resultado da modificação do consagrado *Método de Luke* e também a confirmação dos compostos por CG-MS.

WALISZEWSKI & WALISZEWSKI (51) analisaram Acefato, Metamidofós e Terbufós em tabaco, por GC, com amostras fortificadas em níveis de 0,6 ppm para o Metamidofós, 1,0 ppm para o Acefato e 0,3 ppm para o Terbufós. As recuperações médias encontradas foram de 107,4; 96,4 e 82,7%, respectivamente, os coeficientes de variação variaram entre 3,9 e 5,5%, e os limites de detecção foram de 0,01; 0,08 e 0,01 ppm para os três compostos, respectivamente.

Avaliações de teores de ingrediente ativo e impurezas, bem como efeitos de matriz e estabilidade de extratos em investigações com Metamidofós também têm sido encontrados na literatura (52-54).

4.2 CROMATOGRAFIA EM FASE LÍQUIDA

A cromatografia em fase líquida (CL) tem auxiliado as investigações de Metamidofós. ALLENDER; MAJOR & CRESSWELL (55) determinaram Acefato e Metamidofós por CL com recuperações em torno de 86,3% para Metamidofós e 93,8% para Acefato e limite de detecção na ordem de 0,1 ng. HANKS (56) trabalhou com CL, usando detector ultravioleta (UV) a 210 nm na determinação de Metamidofós, após a utilização de cartuchos de fase reversa para a obtenção e purificação dos extratos. KIENTZ *et al.* (57) usaram detectores termiônico e UV na determinação de Acefato, Metamidofós, e Etil-p-nitrofenilfosforamidato. Os compostos foram separados em coluna micro LC e a curva de calibração foi linear entre 0,050 e 20 ng, com limites de detecção de 0,7; 0,4 e 0,2 ng, para os três compostos, respectivamente. DRESCHER e FIEDLER (38) determinaram quatro pesticidas por cromatografia a líquido, usando detector termiônico seletivo em néctar de frutas. Para o Metamidofós, a recuperação foi de 82% e o limite de detecção de 10 ppb. NORBERG (58) *et al.* investigaram 19 pesticidas, dentre os quais o Metamidofós, em amostras de água, usando detector UV. Obtiveram índices de recuperação variando entre 95 e 121% e limites de detecção entre 0,01 e 0,06 µg/L.

4.3 TÉCNICAS BIOANALÍTICAS

O desenvolvimento de técnicas bioanalíticas tem crescido muito nos últimos anos para análise de variadas matrizes, tais como água, alimentos e fluidos biológicos, entre outras. Por permitir análises rápidas e com o mínimo de preparação da amostra, as técnicas bioanalíticas estão sendo aperfeiçoadas, visando sua aplicabilidade na determinação de inúmeros pesticidas em matrizes ambientais e de alimentos. Neste particular, vários estudos têm se baseado na inibição das enzimas colinesterases pelos organofosforados (incluindo o Metamidofós) e carbamatos. Alguns estudos têm se concentrado em decifrar os mecanismos de inibição visando futuras determinações anticolinesterases (59). SCHENEIDER (60) realizou análises com biossensores enzimáticos e determinou semiquantitativamente o Metamidofós, por comparação com padrão. Obteve limite de detecção de 15 ng. CHEN *et al.* (61) determinaram resíduos de Metamidofós em plantas e vegetais pela inibição enzimática em lâminas obtendo limite de detecção de 0,01 ppm e recuperações entre 90,5 e 96%. WEI *et al.* (62) também determinaram pesticidas organofosforados usando a inibição da lipase pelo sistema de sensoramento por ondas acústicas superficiais (*Surface Acoustic Wave Sensor System*). Analisaram solução de Metamidofós em acetona e os resultados obtidos evidenciaram linearidade em concentrações que variaram entre 250 e 1250 ng/mL, com recuperação média de 100,1%. SINGH (63) estudou cineticamente a inibição de colinesterases de soro sangüíneo e células cerebrais, por Metamidofós e Acefato. Observou que o Metamidofós foi 100 vezes mais potente que o Acefato e que as colinesterases oriundas de células cerebrais foram mais sensíveis aos inseticidas que aquelas extraídas de soro sangüíneo. HUSSAIN *et al.* (64) compararam as propriedades anticolinesterases destes pesticidas *in vitro*, por quatro tipos distintos de enzimas, sugerindo que a inibição pelo Metamidofós não é reação espontânea. MOSER (65) comparou efeitos neurotóxicos de Metamidofós e alguns carbamatos em ratos jovens e adultos pela administração oral destes pesticidas. Verificou que a inibição da colinesterase causada pelos carbamatos foi prontamente reversível em todas as faixas etárias do grupo em estudo, enquanto que com o Metamidofós, a atividade enzimática foi recuperada mais rapidamente somente em ratos jovens.

Outras pesquisas têm sido descritas na literatura, como estudos com colinesterases de plasma e soro sangüíneos, efeitos pós-sinapses, bem como estudos de Metamidofós como prolongador da ação anestésica de succinilcolina em butirilcolinesterases (66-72). Todas essas investigações tiveram como foco principal o estudo da neurotoxicidade

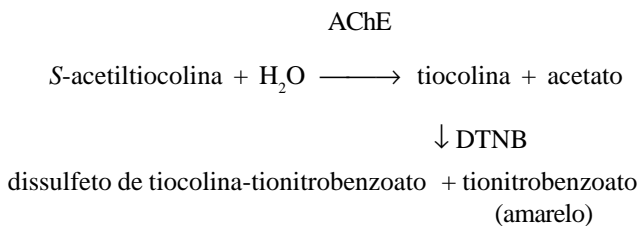
dos inibidores de colinesterases, porém, têm servido para o desenvolvimento de metodologias analíticas baseadas em biossensores enzimáticos.

As técnicas bioanalíticas que empregam imunoensaios vêm alcançando destaque nos estudos relacionados a pesticidas, pois aliam sensibilidade, especificidade, rapidez e simplicidade num único método. LUI *et al.* (35) efetuaram microimunoensaio para detecção de vários pesticidas em produtos frescos obtendo limite de detecção para o Metamidofós em níveis de 3 ppm.

4.4 TESTES COLORIMÉTRICOS

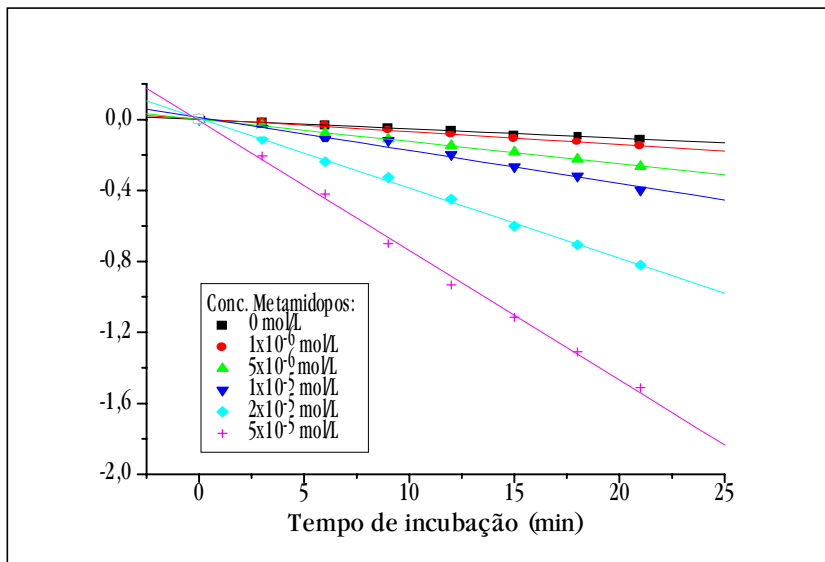
SRINIVASAN & LINGAPPA (36) efetuaram determinação colorimétrica de Metamidofós a partir da inibição das enzimas colinesterases extraídas de plasma sangüíneo. A tiocolina formada a partir da reação enzima/substrato foi analisada no comprimento de onda de 420 nm. Foram obtidas para 100 g de amostras de folhas, com teores de 5, 10, 15, 20 e 25 µg de pesticidas, recuperações entre 82 e 90%.

NUNES & MARTY (73) determinaram as constantes de inibição (pelo Metamidofós) da enzima acetilcolinesterase, obtida da mosca-das-frutas (*Drosophila melanogaster*), e algumas enzimas mutantes, resultantes de modificações genéticas. Para tanto, os pesquisadores utilizaram o método espectrofotométrico desenvolvido por ELLMAN *et al.* (74). Este baseia-se na reação entre o produto da hidrólise do substrato acetiltiocolina, pela acetilcolinesterase (AChE) e o reagente de cor ditiobisnitrobenzoato (DTNB), cuja reação origina produto colorido (tionitrobenzoato) de acordo com a seguinte reação:



A Figura 2 mostra as curvas de inibição enzimática, em presença do Metamidofós em diferentes concentrações, a partir da qual a constante cinética foi calculada (74). O objetivo do trabalho foi selecionar uma enzima que fosse suficientemente sensível ao Metamidofós, de modo a empregá-la como biossensor em sistemas amperométricos.

FIGURA 2- INIBIÇÃO CINÉTICA DE UMA ENZIMA MUTANTE GENETICAMENTE MODIFICADA DA ACHE EXTRAÍDA DA *Drosophila melanogaster* PELO METAMIDOFÓS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES



FONTE: NUNES & MARTY, 2001 (73).

PÉREZ-RUIZ utilizou metodologia fotoquímica por sistema de injeção em fluxo baseada em foto-oxidação. O Metamidofós foi rapidamente decomposto em presença de peroxidodissulfato sob irradiação de luz ultravioleta, que gera fosfato, cuja reação com molibdato em ácido nítrico forma ácido fosfomolibdico. Este oxida a tiamina gerando tiocromo que foi monitorado em 440 nm. A metodologia mostrou faixa linear entre 14 a 1400 ng.mL⁻¹, com limite de detecção de 1,7 ng.mL⁻¹ em amostras vegetais, apresentando adequada reprodutibilidade e repetibilidade (75).

5 CONCLUSÃO

O Metamidofós, pesticida potencialmente tóxico para seres humanos e diversos animais, vem sendo largamente empregado na

agricultura mundial devido sua eficácia no combate a diversas pragas em distintas culturas vegetais. Muitos métodos têm sido desenvolvidos para quantificar os teores deste organofosforado em várias matrizes, porém estudos visando detectar quantidades em níveis cada vez menores são de suma importância para o controle deste pesticida. A validação de métodos rápidos e seletivos é, sem dúvida alguma, a grande preocupação na análise de Metamidofós, bem como de pesticidas em geral.

Abstract

ORGANOPHOSPHORUS INSECTICIDE METHAMIDOPHOS: TOXICOLOGICAL AND ANALYTICAL ASPECTS

This article presents bibliographical review about Methamidophos insecticide, including its physical-chemistry characteristics, dangers, intoxication and contamination cases. It shows the toxicological and analytical aspects of the active principle, showing the main analytical techniques employed in the determination of such organophosphorus pesticide in different matrices. Potentially toxic, Methamidophos have been used in word crop for its efficiency to combat several kinds of pests. It was concluded that fast and selective methods validation is the biggest concern in Methamidophos and general pesticides analyses.

KEY-WORDS: METHAMIDOPHOS; CONTAMINATION; ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES.

REFERÊNCIAS

- 1 TOMLIN, C. **The pesticide manual:** a world compendium, incorporating the agrochemicals handbook. 10th ed. Great Britain: Crop Protection Publications, 1994. p. 462-463.
- 2 HASSAL, A. K. **The biochemistry and uses of pesticides:** structure, metabolism, mode of action and uses in crop protection. 2nd ed. Weiheim: VCH, 1990.
- 3 EPA. Environmental Protection Agency. **Pesticide environmental fate one line summary:** methamidophos. Washington, DC: Environmental Fate and Effects Division, 1989.
- 4 ILSE. International Life Science Institute of Brazil. **Relação de substâncias para uso fitossanitário e domissanitário:** portarias do Ministério da Agricultura. São Paulo, 1995.
- 5 BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de

- Defesa Agropecuária. Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal. Coordenação de Fiscalização de Agrotóxicos. **AGRO FIT 97: sistema de produtos fitossanitários**. Brasília, DF, 1997.
- 6 BRASIL. Departamento de Defesa Vegetal. **Compêndio de defensivos agrícolas: guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola**. 3. ed. São Paulo: Andrei, 1990.
 - 7 INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Curso latino americano de análise de resíduos de pesticidas em alimentos**. São Paulo, 1982.
 - 8 MARTY, J. L. Environmental monitoring of pesticides using biosensors. **Prog. Biotechnol.**, v. 9, n. 1, p. 557-560, 1994.
 - 9 MOREIRA, L.F. **Diagnóstico dos problemas ecotoxicológicos causados pelo uso de inseticida (metamidofós) na região agrícola de Viçosa - MG**. Viçosa, 1995. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa.
 - 10 ARAÚJO, S.M. **Uso de inseticidas nos pólos de produção da ilha de São Luís (MA): condições de trabalho e contaminação de hortaliças**. São Luís, 2000. 88 f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) - Universidade Estadual do Maranhão.
 - 11 GARY, N.E.; LORENZEN, K. Effect of methamidophos on honey bees (*Hymenoptera: Apidae*) during alfalfa pollination. **J. Econ. Entomol.**, v. 82, n. 4, p. 1067-1072, 1989.
 - 12 JUAREZ, L. M.; SANCHEZ, J. Toxicity of the organophosphorus insecticide metamidophos (O,S-dimethyl phosphoramidothioate) to larvae of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) and the blue shrimp *penaeus stylirostris* stimpson. **B. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 43, n. 2, p. 302-309, 1989.
 - 13 CHAN, T.Y.K.; CRISTCHLEY, A. J. H.; CHAN, A. Y. W. An estimate of the incidence of pesticide poisoning in Hong Kong. **Vet. Human. Toxicol.**, v. 38, n.5, p. 362-364, 1996.
 - 14 MCCONNELL, R.; HRUSKA A. J. An epidemic of pesticide poisoning in Nicaragua: implications for prevention in developing countries. **Am. J. Public. Health**, v. 83, n.11, p.1559-1562, 1993.
 - 15 CORNWALL, J. E. et al. Risk assessment and health effects of pesticides in tobacco farming in Malasia. **Health Policy Plan.**, v. 10, n.4, p. 431-437, 1995.
 - 16 GOTH, K. T. et al. Acute organophosphorus food poisoning caused by contaminated green leafy vegetables. **Arch. Environ. Health**, v. 45, n.3, p.180-184, 1990.

- 17 CHAN, T. Y. K. Childhood poisoning: the scope for prevention. **Vet. Human Toxicol.**, v. 40, n.6, p. 361-363, 1998.
- 18 JING, W. et al. Pesticides residues in agricultural produce in Hubei province. **Plant. Sciences**, v.18, n.3, p. 403-416, 1999.
- 19 SENANAYAKE, N.; JOHNSON, M. K. Acute polyneuropathy after poisoning by a new organophosphorus insecticide. **N. Engl. J. Med.**, v. 306, n.3, p. 155-157, 1982.
- 20 PADUNGTO, C. et al. Sperm aneuploidy among Chinese pesticide factory workers: Scoring by the FISH method. **Am. J. Ind. Med.**, v. 36, n. 2, p. 230-238, 1999.
- 21 MCCONNELL, R.; KEIFER M.; ROSENSTOCK, L. Elevated quantitative vibrotactile threshold among workers previously poisoned with methamidophos and other organophosphate pesticides. **Am. J. Ind. Med.**, v. 25, n.3, p. 325-334, 1994.
- 22 DE HARO, L. et al. Methamidophos poisoning: acute and delayed neurotoxicity, two case reports. **Acta Clinica. Belgica**, Suppl. 1, p. 64-67, 1999.
- 23 YEN, J. H.; LINK, H.; WANG, Y. S. Potential of the insecticides acephate and methamidophos to contaminate groundwater. **Ecotoxicol. Environ. Safety**, v. 45, n.1, p. 79-86, 2000.
- 24 MALATO, S. et al. Solar photocatalytic mineralization of commercial pesticides: methamidophos. **Chemosphere**, v. 38, n.5, p. 1145-1156, 1999.
- 25 DOOG, R. A.; CHANG, W. H. Photoassisted iron compound catalytic degradation of organophosphorus pesticides with hydrogen peroxide. **Chemosphere**, v. 37, n.13, p. 2563-2572, 1998.
- 26 KOUKUREC, V. et al. Stability of pesticides in plant extracts used as calibrants in gas chromatographic analysis of residues. **J. Chromatogr. A**, v.800, n.2, p. 297-304, 1998.
- 27 ANTONIOUS, G. F.; SNYDER, J. C. Residues and half-lives of acephate, methamidophos, and pirimiphos-methyl in leaves and fruit of greenhouse-grown tomatoes. **B. Environ. Contam. Toxicol**, v. 52, n.1, p. 141-148, 1994.
- 28 BOMBOSCH, S.; DEDEK, W. Integrated pest-control against *IPSE*-typographus (L)-combined use of pheromones and the systemic insecticide methamidophos (IPIDEX). **J. Plant Dis. Prot.**, v. 101, n.5, p. 508-518, 1994.
- 29 DEDEK, W. et al. Pre-concentration of hydrophilic and hydrophobic

- pesticides from aqueous solutions and extraction of residues using the polymeric sorbent Wofaitit Y 77. II. Extension of the studies to hydrophobic pesticides; aqueous extraction of pesticides from plant material and soil. **Fresenius' J. Anal. Chem.**, v. 339, n.4, p. 201-206, 1991.
- 30 SANZ-ARSENSIO, J. et al. Behavior of acephate and its metabolite methamidophos in apple samples. **Cromatography**, v. 49, n. 3-4, p. 155-160, 1999.
 - 31 FERNANDEZ-ALBA, A. R. et al. Comparison of various sample handling and analytical procedures for the monitoring of pesticides and metabolites in ground waters. **J. Chromatogr. A**, v. 823, n. 1-2, p. 35-47, 1998.
 - 32 NI, J.N.; LIU, S.M. Rapid sample pre-treatment method in detection of methamidophos residue by ISE. **Fenxi-Shiyanshi**, v. 13, n.1, p. 80-82, 1994.
 - 33 ZHU, X. H. et al. Oscillopolarographic determination of methamidophos in air. **Lihua Jianyan Huaxue Fence**, v. 34, p. 504-505, 1998.
 - 34 SUN, C.; WANG, P.; XIANG, J. Differential pulse cathodic-stripping voltametric determination of methamidophos residues in rice plants. **Fenxi Huaxue**, v.15, p. 256-258, 1987.
 - 35 LUI, Jaqueline et al. Immobilized enzyme modulator microassay (IEMMA) for the detection of pesticide in fresh produce. **Anal. Chim. Acta**, v. 329, n.3, p. 297-304, 1996.
 - 36 SRINIVASAN, S.; LINGAPPA, S. Colorimetric determination of methamidophos by cholinesterase inhibition. **Sci. Cult**, v. 50, n.1, p. 30-32, 1984.
 - 37 VAN DER HOFF, G.; VAN ZOONEN, P. Trace analysis of pesticides by gas chromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 843, n. 1-2, p. 301-322, 1999.
 - 38 DRESCHER, W.; FIEDLER, L. Detection of residues of the insecticides acephate, dimethoate, methamidophos and omethoate in small amounts of nectar. **Chemosphere**, v. 12, n.11-12, p. 1605-1610, 1983.
 - 39 OBANA, H. et al. Determination of organophosphorus pesticides in foods using an accelerated solvent extraction system. **Analyst**, v. 122, n.3, p. 217-220, 1997.
 - 40 OBANA, H. et al. Determination of acephate and methamidophos in foods using supersorbent polymer. **Anal. Commun.**, v. 34, n.9, p. 253-256, 1997.
 - 41 LEE, W. O.; LAW, M. L.; WONG, S. K. Determination of methamidophos residues in food remnants. **Food. Addit. Contam.**, v. 13, n.6, p. 687-693, 1996.

- 42 WYLIE, P. L.; UCHYAMA, K. Improved gas-chromatographic analysis of organophosphorus pesticides with pulsed splitless injection. **J. AOAC Int.**, v. 79, n.2, p. 571-577, 1996.
- 43 OGAWA, T. et al. Analysis of acephate and methamidophos in agricultural products by GC. **Shokuhin. Eiseigaku. Zasshi**, v. 38, n.4, p. 204-210, 1997.
- 44 HIRAI, S.; ONJI, Y.; SASAKI, M. Simple determination of organophosphorus pesticides in agricultural products using a graphitized carbon black cartridge. **Shokuin. Eiseigaku. Zasshi**, v. 36, n.5, p. 635-638, 1995.
- 45 LI, W.A.; WANG, Z.J. A rapid gas-chromatographic method for the determination of methamidophos and isocarbophos residues in vegetables. **Fenxi. Huaxue**, v. 23, n.12, p.1371-1375, 1995.
- 46 GARCIA, M. A.; FERNANDEZ, M. I.; MELGAR, M. J. Contamination of honey with organophosphorus pesticides. **B. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 54, n.6, p. 825-832, 1995.
- 47 CAI, C.P.; LIANG, M.; WEN, R. R. Rapid multiresidue screening method for organophosphate pesticides in vegetables. **Chromatographia**, v. 40, n.7-8 p. 417-420, 1995.
- 48 AGUERA, A.; CONTRERAS, M.; FERNANDEZ-ALBA, A.R. Gas-chromatographic analysis of organophosphorus pesticides of horticultural concern. **J. Chromatogr. A**, v. 655, n.2, p. 293-3003, 1993.
- 49 SUDARAM, K.M.S.; NOTT, R. Gas-chromatographic method for simultaneous determination of acephate and methamidophos in bark, cone and seed samples conifers. **J. Chromatogr.**, v. 627, n.1-2, p. 300-304, 1992.
- 50 MATTERN, G.C. et al. Determination of several pesticides with a chemical ionization ion-trap detector. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 38, n.2, p. 402-407, 1990.
- 51 WALISZEWSKI, S. M.; WALISZEWSKI, K. N. Gas-chromatographic determination of acephate, methamidophos and terbufus in tobacco. **Fresenius Z. Anal. Chem.**, v. 325, n.4, p. 394, 1986.
- 52 BORFUH, C.; WU, M. L. Impurity analysis of methamidophos with chromatographic methods. **Anal. Chim. Acta**, v. 395, n.3, p.257-263, 1999.
- 53 HAJŠLOVÁ, J. et al. Matrix-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues. **J. Chromatogr. A**, v. 800, n.2, p. 283-295, 1998.
- 54 CHENCK, F. J.; LEHOTAY, S. J. Does further clean-up reduce the matrix

- enhancement effect in gas chromatographic analysis of pesticide residues in food. **J. Chromatogr. A**, v. 868, n.1, p. 51-61, 2000.
- 55 ALLENDER, W. J.; MAJOR, E.J.; CRESSWELL, G. C. Measurement of acephate and its principal metabolite in leaves by gas-liquid chromatography. **Pestic. Sci.**, v. 35, n.1, p. 91-94, 1992.
 - 56 HANKS, A. R. Liquid-chromatographic method for determination of methamidophos in technical products and pesticides formulations: CIPAC collaborative study. **J. AOAC Int.**, v. 75, n.4, p. 698-700, 1992.
 - 57 KIENTZ, C. E. et al. Microcolumn liquid chromatography of the enantiomers of organophosphorus pesticides with thermionic and ultra-violet detection. **J. High. Resolut. Chromatogr.**, v. 14, n.7, p. 460-464, 1991.
 - 58 NORBERG, J. et al. Online solid-phase extraction-liquid chromatography for screening and quantification of organophosphorus pesticides in surface water. **Anal. Methods Instrum.**, v. 2, n.5, p. 266-276, 1995.
 - 59 ROBINSON, C. P., BEIERGROHSLEIN, D. Inhibition of human erythrocyte and plasma cholinesterases by methamidophos. **Appl. Toxicol.**, v. 2, p. 217-218, 1982.
 - 60 SCHENEIDER, J. Thin-layer chromatographic identification of methamidophos by enzymic detection. **Nahurung**, v. 30, n.8, p. 859-860, 1986.
 - 61 CHEN, Z.; WANG, X.; CHEN, H. Determination of methamidophos residues by T. L. C. plant-enzyme-inhibition technique. **Fenxi. Huaxue**, v. 12, n.10, p. 945, 1984.
 - 62 WEI, W. et al. Determination of organophosphorus pesticides based on the inhibition of lipase with a surface acoustic wave sensor system. **Int. J. Environ. Anal. Chem.**, v. 64, n.4, p. 279-287, 1996.
 - 63 SINGH, A. K. Kinetic analysis of inhibition of brain and red blood cell acetylcholinesterase and plasma cholinesterase by acephate or methamidophos. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 81, n.2, p. 302-309, 1985.
 - 64 HUSSAIN, M. A.; MOHAMAD, R. B.; OLOFFS, P. C. Studies on the toxicity, metabolism, and anticholinesterase properties of acephate and methamidophos. **J. Environsci. Health [B]**, v. 20, n.1, p.29-47, 1985.
 - 65 MOSER, V. C. Comparison of aldicarb and methamidophos neurotoxicity at different ages in the rat: behavioral and biochemical parameters. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 2, n.157, p. 94-106, 1999.
 - 66 CAMARA, A. L. et al. Methamidophos: an anticholinesterase without significant effects on postsynaptic receptors or transmitter release.

Neurotoxicology, v. 18, n.2, p. 589-602, 1997.

- 67 SINGH, A. K. Molecular properties and inhibition kinetics of acetylcholinesterase obtained from rat brain and cockroach ganglion. **Toxicol. Ind. Health**, v. 6, n. 6, p. 551-570, 1990.
- 68 SINGH, A. K. Kinetic analysis of acetylcholinesterase inhibition by combinations of acephate and methamidophos. **Toxicology**, v. 42, n. 2-3, p. 143-156, 1986.
- 69 WOREK, F. et al. Reactivation by various oximes of human erythrocyte acetylcholinesterase inhibited by different organophosphorus compounds. **Arch. Toxicol.**, v. 70, n. 8, p. 497-503, 1996.
- 70 DEJONG, L. P. A.; WORING, G. Z.; BENSCHOP, H. P. Reactivation of acetylcholinesterase inhibited by methamidophos and analogous (di)methylphosphoramidates. **Arch. Toxicol.**, v. 49, n. 2, p. 175-83, 1982.
- 71 SPARKS, S. E; QUISTAD, G. B; CASIDA, J. E. Organophosphorus pesticide-induced butyrylcholinesterase inhibition and potentiation of succinylcholine toxicity in mice. **J. Biochem. Mol. Toxicol**, v. 13, n.2, p.113-118, 1999.
- 72 JOHNSON, M. K.; VILANOVA, E.; READ, D. J. Interaction of methamidophos with hen and human acetylcholinesterase and neuropathy target esterase. **Arch. Toxicol.**, v. 65, n. 7, p. 580-5, 1991.
- 73 NUNES, G. S. et al. Acetylcholine enzyme sensor for determining methamidophos insecticide: evaluation of some genetically modified acetylcholinesterases from *Drosophila melanogaster*. **Anal. Chim. Acta**, v.434, n. 1, p. 1-8, 2001.
- 74 ELLMAN, G. L. et al. Determination of kinetic inhibition constant of acetylcholinesterases. **Biochem. Pharmacol.**, v. 7, n. 2, p. 89-95, 1961.
- 75 PÉREZ-RUIZ, T. Flow injection determination of methamidophos using online photo-oxidation and fluorimetric detection. **Talanta**, v. 54, n. 5, p. 989-995, 2001.